

**DIAGNOSTISCHER WERT VON ZWEI
BAKTERIOLOGISCHEN STANDARD-METHODEN
BEI DER LABORUNTERSUCHUNG
VON SPUTUMPROBEN**

**EINE PROSPEKTIVE STUDIE
VON POSTOPERATIVEN LUNGENINFEKTIONEN**

Peter John Wilkinson

1978



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554610_0063

Aus der Abteilung für Antimikrobielle Therapie
und Infektionsimmunologie

(Vorstand: Prof. Dr. W. Marget)

der Universitätskinderklinik München

im Dr. von Haunerschen Kinderspital

(Direktor: Prof. Dr. K. Betke)

DIAGNOSTISCHER WERT VON ZWEI BAKTERIOLOGISCHEN STANDARD-METHODEN
BEI DER LABORUNTERSUCHUNG VON SPUTUMPROBEN
EINE PROSPEKTIVE STUDIE VON POSTOPERATIVEN LUNGENINFEKTIONEN

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Peter John Wilkinson
aus
Bristol, England

München 1977

Mit Genehmigung des Fachbereichs Medizin der Universität München

Berichterstatter:	Prof. Dr. W. Marget
Mitberichterstatter:	Prof. Dr. K. Betke
Dekan:	Prof. Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 17. 10. 1978



INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
I. EINLEITUNG	1
II. PATIENTEN UND METHODIK	2
A. Klinische Untersuchungen	2
B. Laboruntersuchung von Sputum	3
1. Routinemethode	3
2. Homogenisierungsmethode	4
3. Laborbewertung	4
III. ERGEBNISSE	6
IV. DISKUSSION DER ERGEBNISSE	11
1. Verbesserung der Methoden zur Gewinnung von Sputum	12
2. Verbesserung der technischen Möglichkeiten zur Auswahl der richtigen Methode	14
3. Verfeinerung der kulturellen Arbeitsmethoden	15
4. Erweiterung der diagnostischen Möglichkeiten	17
5. Bewertung der hier gebrauchten Methoden und der klinischen Bedeutung der isolierten Keimen	18
V. ZUSAMMENFASSUNG	22
VI. LITERATURVERZEICHNIS	23
VII. ANLAGEN	
A. Klinisches Musterformular	
B. Labor-Musterformular	

I. EINLEITUNG

Schon seit längerer Zeit wird versucht, die Untersuchung von Sputum methodisch zu verbessern. In dieser Studie wird mit der üblichen routinemäßigen kulturellen Auswertung eine Verflüssigungs- und eine Verdünnungstechnik verglichen. Um eine brauchbare Auswertung zu erhalten, wurde die Studie prospektiv durchgeführt. Damit war es möglich, den klinischen Krankheitsverlauf der Lungeninfektionen unabhängig von den bakteriologischen Befunden beobachten zu können. Nach Erhalt aller gewonnenen Ergebnisse, d. h. der klinischen und der bakteriologischen Untersuchungen, war man so in der Lage, einen objektiven Vergleich der Resultate beim einzelnen Patienten zu erhalten.

Davon abgesehen, wurde eine weitere Aussage ermöglicht, nämlich die Bewertung der pathogenen Bedeutung von Keimen, die bei der Isolierung aus Sputumproben gewöhnlich angetroffen werden.

II. PATIENTEN UND METHODIK

A. Klinische Untersuchungen

Bei terminlich festgesetzten Operationen, also bei keiner Notfallsituation, die meist den abdominellen Bereich betrafen, wurden von Oktober 1974 bis September 1975 73 Patienten zwischen 27 und 88 Jahren von dem gleichen Team operiert. (Das Durchschnittsalter betrug 57 Jahre.) Am Tag vor der Operation wurde eine Lungeninfektion klinisch ausgeschlossen und bis zu 10 Tagen nach der Operation bzw. bis zum Entlassungstag wurden ebenfalls die erwähnten Untersuchungen routinemäßig vorgenommen, d. h. neben der klinischen Untersuchung wurde noch mindestens 1 Röntgenaufnahme angefertigt, abgesehen von den später berücksichtigten Sputumkontrollen.

Diese Erhebungen, die die antibiotische Behandlung mit einschlossen, wurden auf einem besonderen Formular (siehe Anlage A) festgehalten, und erst nachdem alle Untersuchungen abgeschlossen waren, dem Laborpersonal mitgeteilt. Patienten, die klinisch eine Lungeninfektion aufwiesen, wurden auch röntgenologisch untersucht.

Die klinischen Ergebnisse wurden wie folgt bewertet:

- 0 kein klinischer oder röntgenologischer Nachweis einer Infektion
- 1 nur geringe Hinweise mit spärlichen physikalischen Zeichen einer Lungeninfektion
- 2 klare Hinweise, aber kein sicherer Anhalt einer Lungeninfektion
- 3 Pneumonie

B. Laboruntersuchung von Sputum

Von den Patienten wurde täglich frisches Sputum gesammelt. Hierbei wurde registriert, wenn kein Sputum zu gewinnen war. So weit als möglich halfen Physiotherapeuten bei der Gewinnung der Sputumproben. Im Labor wurden alle Details und Ergebnisse auf einem besonderen Formular eingetragen (siehe Anlage B).

Das Aussehen des Sputums ("Sputum grade"), mukös oder eitrig, wurde ebenfalls registriert, und zwar nach dem Schema von Miller und Jones (44):

M₁ - mukös

M₂ - mukös mit Verdacht auf Eiter

P₁ - 1/3 Eiter

P₂ - 2/3 Eiter

P₃ - Eiter

Unverwertbare Proben, z. B. nur Speichel, wurden nicht untersucht. Verwertbare Proben wurden mit Hilfe zweier verschiedener Methoden geprüft:

1. Routinemethode (ohne Homogenisierung)

Mikroskopie:

(Gramfärbung) von verschiedenen Proben, wenn Eiter vorhanden.

Kultur:

Verschiedene Portionen wurden verteilt auf:

- a) Blutagar mit zwei Optochinblättchen (6, 7);
- b) MacConkey Galle-Salz-Agar

Kochblutagar, der Bacitracin, 10 E/ml (2, 22) enthält und sowohl Haemophilus sp. als auch andere gramnegative Stäbchen selektiert.

2. Homogenisierungsmethode

mit N-acetyl-l-cystein (nach 85, modifiziert)

Mikroskopie:

(Gramfärbung)

Kultur:

a) unverdünnt auf die Medien a, b, c, wie oben

b) verdünnt 1 : 1000 auf die Medien a und c

3. Laborbewertung

Abstriche:

Die Durchschnittswerte der Leukozytenzahlen aus verschiedenen repräsentativen Blickfeldern des Präparates wurden anhand beider Bestimmungsmethoden erfaßt. Die Morphologie und Häufigkeit der Erreger wurde registriert, wobei außerdem mit besonderer Sorgfalt auf das Überwiegen einer oder mehrerer Erregergruppen geachtet wurde.

Kulturelles Wachstum wurde wie folgt bewertet:

- + spärlich: Einzelkolonien vorhanden, die sich aber weiter nicht ausbreiten
- + mäßige Keimzahlen, noch Einzelkolonien, die sich aber weiter ausbreiten
- ++ primär konfluierendes Wachstum, aus dem sich ein dichter Rasen entwickelt

Pneumokokken wurden mit Hilfe der Koloniemorphologie und Optochinempfindlichkeit identifiziert (6, 7).

Haemophilus influenza-Kolonien

wurden mit Hilfe der Kolonieförmigkeit und des selektiven Wachstums auf bacitracinhaltigem Kochblutagar identifiziert (2, 22). Zusätzlich wurde eine Gramfärbung vorgenommen und die Wachstumsabhängigkeit von X- und V-Faktoren überprüft (37).

Coliforme Bakterien (eingeschlossen nicht lactosespaltende gramnegative Stäbchen) wurden auf MacConkey-Agar und wenn

nötig, durch zusätzliche biochemische Untersuchungen identifiziert.

Folgende Bakterienspezies wurden als nicht relevant betrachtet: Streptococcus viridans, Neisseria, Diphtheroide, Staph. epidermidis und andere Keime, außer wenn sie in Massen vorkamen.

Als sicherer pathologischer Befund wurde angesehen, wenn ein üppiges Wachstum (++) von Pneumokokken, Haemophilus und anderer gramnegativer Stäbchen, wie z. B. Proteus, Esch. coli, Pseudomonas, Klebsiella etc. in Erscheinung trat.

III. ERGEBNISSE

137 Sputen wurden mit beiden Methoden erfaßt. Die mikroskopischen Ergebnisse korrelierten mit den Ergebnissen der Kulturbestimmungen. In mikroskopischen Präparaten waren bei beiden Methoden die Keime zahlreich zu erkennen, in der Kultur wuchsen sie üppig. Differenzierte Ergebnisse bei der Isolierung von Keimen, wie sie von May (39) beschrieben wurden, der verflüssigtes Sputum ohne Selektivagar kultivierte, kamen bei unserer Routinekombination unter Einschluß von Selektivnährmedien nicht vor.

Konnten bei der Homogenisierungsmethode Keime als Erreger identifiziert werden, dann waren diese fast alle auch bei der Routinemethode signifikant nachweisbar. Keine von beiden Methoden hatte einen eindeutigen Vorteil gegenüber der anderen (Tabelle 1). Auch die Verdünnung der homogenisierten Probe brachte im Vergleich zum unverdünnten Homogenisat keine Verbesserung.

Tabelle 1 Vergleich der Sputum-Untersuchung direkt und nach der Homogenisierung

	Mikroskopie	Kultur
Homogenisierung besser	7	9
Direkte Prüfung besser	11	7
Kein Unterschied	119	121
Summe	137	137

Von 73 untersuchten Patienten (Tabelle 2) waren 20 ohne klinischen Anhalt einer Lungeninfektion. Bei ihnen war kein Sputum zu gewinnen. Bei 3 Patienten mit einer Lungeninfektion war dies ebenfalls nicht möglich. Von den restlichen 50 Patienten wurden repräsentative Sputumproben mit dem klinischen Bild verglichen. Pro Patient wurden durchschnittlich 2,7 Proben entnommen. Das Verhältnis der Sputumproduktion, Eitergehalt und bakteriologische Ergebnisse zum klinischen Bild des Patienten seit Erhalt

der Proben ist in Tabelle 2 dargestellt. Wo es einen eindeutigen Wechsel, entweder des klinischen Bildes oder der bakteriologischen Ergebnisse während der Beobachtungsdauer, wie es ja bei 5 Patienten geschehen ist, gab, erfolgte eine weitere Eintragung auf diesem Teil der Tabelle.

Tabelle 2 Vergleich des Sputum-Eiters mit dem Vorkommen klinischer Lungeninfektionen

Lungeninfektion	Sputum Ergebnisse				
	Kein Sputum	mukös		eitrig	
		nicht signif. Wachstum	signif. Wachstum	nicht signif. Wachstum	signif. Wachstum
Schweregrad 0 (keine Anzeichen)	20	6	1	8	2
Schweregrad 1	2(1)	3	2(1)	1(1)	11(4)
Schweregrad 2	0	0	2	2	7(4)
Schweregrad 3	1	0	1(1)	0	9(2)
Summe infizierter Fälle	3(1)	3	5(2)	3(1)	27(10)
Schweregrade 1 - 3					

Es gab eine gute, wenn auch keine vollständige Übereinstimmung zwischen den Laborwerten und den klinischen Befunden. Erwartungsgemäß fehlte beinahe bei allen Patienten, die kein Sputum produzierten, der klinische Befund einer Lungeninfektion. Jedoch ließ sich von 10 Patienten ohne Anhalt für eine Lungeninfektion eitriges Sputum gewinnen, aber nur zwei von ihnen hatten im Sputum ein Wachstum pathogener Keime, was gemäß den oben an-

() = vorher antibiotisch behandelt

geführten Kriterien als signifikant zu bezeichnen war.

Aus der überwiegenden Mehrzahl der meist eitrigen Sputen von denjenigen Patienten, die eine Lungeninfektion hatten (aller klinischen Schweregrade), konnte ein signifikantes Wachstum pathogener Keime isoliert werden (27/30).

Signifikantes Keimwachstum wurde auch bei 5 nicht eitrigen Untersuchungsproben beobachtet. Zwei dieser Proben stammten von Patienten, die bereits Antibiotika erhalten hatten.

Die Ergebnisse der untersuchten Sputumproben von denjenigen Patienten, die während der vorhergehenden Woche keine Antibiotika erhalten hatten, sind in der Tabelle 3 zusammengestellt.

Wie erwartet, wurde kein signifikantes Keimwachstum bei den meisten der nicht infizierten Patienten gefunden, aber auch bei 5 Patienten mit einer klinisch manifesten Lungeninfektion. Keine dieser Erkrankungen zeigte jedoch einen schweren Verlauf.

Lag ein signifikantes Wachstum vor, so handelte es sich gewöhnlich um Pneumokokken und/oder *Haemophilus influenzae* (in 18 von 23 Untersuchungsproben). Nur einer dieser Patienten wies keine klinischen Symptome einer Erkrankung auf.

Staph. aureus war in nur 3 Untersuchungsproben als einziger Krankheitserreger vorhanden, gramnegative Stäbchen, außer *Haemophilus*, nur in einer. Keiner dieser Keime stammte von einem Patienten mit einer Pneumonie (Schweregrad 3).

Unter Antibiotikagaben (Tabelle 4) konnten weder Pneumokokken noch *Haemophilus influenzae* als Monokultur isoliert werden.

Bei 5 Infizierten wurden diese Keime, entweder zusammen mit einem anderen gramnegativen Stäbchen oder mit *Staph. aureus* isoliert.

In 6 Fällen wurde jedoch starkes Wachstum von coliformen Bakterien nahezu in Reinkultur gefunden. Damit wurde die Vorstellung weiter gestützt, daß solche Organismen oft den Atemtrakt von Patienten kolonisieren, die unter Antibiotikatherapie stehen (18, 34, 36, 41, 42, 54, 58, 59, 61, 65, 76).

Tabelle 3 Bakteriologische Befunde im Sputum vor der Antibiotika-Therapie

Grad der Infektion	kein Sputum erhalten	Keim-Wachstum nichtsignifikant	Sputumbefunde			
			Signifikantes, d.h. üppiges Wachstum von:	gramnegative Keime	Staph. aureus	gramnegative Keime und Staph. aureus
			Pneumokokken und/oder Haemophilus influenzae allein mit gramneg. Keimen und/oder Staph. aureus			
Schwere-grad 0 (keine Anzeichen)	20	14	1	0	1	1
Schwere-grad 1	1	3	5	2	0	1
Schwere-grad 2	0	2	2	1	1	0
Schwere-grad 3	1	0	7	0	0	0
Summe der infizierten Fälle	2	5	14	3	1	2

Tabelle 4 Einfluß einer vorhergehenden Antibiotikatherapie auf die bakterielle Flora im Sputum

Schweregrad der Infektion	Kein Sputum erhalten oder Keimwachstum nicht signifikant	Sputum Ergebnisse			
		Pneumococcus und/oder Haemophilus influenzae	Pneumococcus/ Haemophilus mit gramneg. Keimen und/oder Staph. aureus	gramneg. Keime Staph. aureus	Gramneg. Keime mit Staph. aureus
Schweregrad 0 (Keine Zeichen)	0	0	0	0	0
Schweregrad 1, 2 und 3	2	0	5	6	1
					0

IV. DISKUSSION DER ERGEBNISSE

Infektionen der tieferen Atemwege sind in Großbritannien weit verbreitet, gewöhnlich sind dabei Bakterien beteiligt (39 u. a.). Die bakteriologische Prüfung des Auswurfs, die in solchen Fällen üblich ist, hat jedoch eine schlechte Aussagekraft im Vergleich zu den klinischen und röntgenologischen Krankheitsbildern und zur Behandlung dieser Infektionen. Nach einer Verbesserung müßte auf verschiedene Weise gesucht werden, die aber im Detail später besprochen wird.

In dieser Studie wurden, möglichst mit Hilfe physiotherapeutischer Maßnahmen, alle Untersuchungsproben in sterilen Behältern gesammelt. Bei der makroskopischen Prüfung im Labor wurde Material, bei dem es sich offensichtlich um reinen Speichel handelte, für eine weitere Untersuchung nicht herangezogen, obwohl viele dieser Proben mit M_2 oder P_1 bewertet wurden. Präparate, bei denen Gramfärbungen angefertigt wurden, wurden mit Hilfe zweier verschiedener Züchtungsmethoden weiterbearbeitet. Murray und Washington (50) fanden es als Hinweis auf eine oro-pharyngeale Kontamination sinnvoll, Gramfärbungen auf das Vorhandensein von schuppigen Epithelzellen zu untersuchen. Diejenigen Präparate, die mehr als zehn Epithelzellen in einem Untersuchungsfeld unter der kleineren Vergrößerung ($\times 100$) hatten, wurden ausgeschlossen.

Bei der Isolierung von Keimen aus den tieferen Atemwegen sind die Nachteile des "ausgespuckten Sputums" gut bekannt (8, 28, 31, 40, 82). Die größte Schwierigkeit liegt darin, echtes Sputum aus den Bronchien und Bronchiolen zu erhalten und in der Unvermeidbarkeit einer Kontamination des ausgespuckten Sputums durch die Rachen-Flora, die auch nichtpathogene Erreger, wie z. B. *H. influenzae* und *Strept. pneumoniae* enthält. *H. influenzae* wurde bei 60 - 80 % der Kleinkinder im oberen Atemtrakt gefunden, ein geringerer Prozentsatz bei Erwachsenen (80) sowie *Strept. pneumoniae* im oberen Atemtrakt bei über 40 % der Erwachsenen (14).

Zusätzliche Ungenauigkeiten traten dann auf, wenn eine Öse voll Sputum aus einer nicht homogenisierten Probe entnommen und direkt auf den Agar aufgebracht wurde, wie es auch von May (39, 40) beschrieben wurde: Es können nicht nur verschiedene Keime in verschiedenen Anteilen einer offensichtlich eitrigen Probe vorherrschen, sondern auch ein Eitergehalt, der makroskopisch festgestellt wurde, kann irreführend (40) und ohne Keime sein. Die hohe Zahl von Eosinophilen bei Asthmatikern kann den Eindruck von Eiter vortäuschen, obwohl die wahrscheinlich als pathogen in Betracht kommenden Keime (*H. influenzae* und *Strept. pneumoniae*) nicht vorhanden sind.

Diese unbefriedigende Situation kann auf verschiedene Weise wie folgt verbessert werden:

1. Verbesserung der Methode zur Gewinnung des Sputums.
2. Verbesserung der technischen Möglichkeiten zur Auswahl der richtigen Probe.
3. Verfeinerung der kulturellen Arbeitsmethoden.
4. Erweiterung der diagnostischen Möglichkeiten.

1. Verbesserung der Methoden zur Gewinnung von Sputum

Zur Verbesserung der Ausbeute aus den unteren Atemwegen wird Sputum mit Hilfe physiotherapeutischer Maßnahmen im allgemeinen durch Auslösen eines Hustenreizes gewonnen. Bei einer Pneumonie sollten gleichzeitig Blut- und Sputumproben abgenommen werden, da bei einer Mischkultur im Sputum der für die Infektion verantwortliche Keim nicht sicher zu beurteilen ist. Bei gleichzeitiger Anwesenheit im Blut eines Keimes dieser Mischkultur wird die Diagnose erhärtet.

Andere Methoden der Sputumgewinnung sind meist komplizierter, denn der Patient muß dabei sediert oder sogar anästhesiert werden. Das Sputum kann z. B. durch Absaugen des intubierten Patienten aus den Bronchien und Bronchiolen gewonnen und in "sputum-traps" gesammelt werden. Auch eine Bronchoskopie kann

effektiv sein. Es kann dabei aber, wie beim Absaugen, eine orale Kontamination niemals verhindert werden (8, 31). Zwei Arbeitsgruppen (8, 31) schoben zur Gewinnung von Bronchialsekret sterile, in einer Scheide befindliche Watteträger durch ein Bronchoskop und zogen diese innerhalb der Scheide wieder zurück. Sie konnten damit beweisen, daß das Sputum steril war, wenn keine chronische Bronchitis vorlag. Rachenabstriche und ausgehustetes Sputum, die gleichzeitig gesammelt wurden, zeigten immer ein Wachstum pathogener oder auch potentiell pathogener Keime, wie z. B. H. influenza und Strep. pneumoniae (8).

Diese beiden Autoren konnten auch zeigen, daß sehr häufig infiziertes Sputum bei einer chronischen Bronchitis gefunden wurde (8, 31). Laurenzi et al. (30) zeigten zusätzlich, daß bei Patienten mit einer Schädigung des peripheren Lungenbereiches (inklusive eines peripheren Bronchialcarcinoms) die Bronchien meist steril waren, dagegen bei jenen mit einem Carcinom im Zentrum, in den tieferen Atemwegen Keime gefunden wurden.

Die Gewinnung von Sputum durch ein Bronchoskop erfordert eine starke Sedierung, wenn nicht sogar eine Vollnarkose.

Pecora (55) schlug die Trans-tracheale-Aspiration (TTA) vor. Bei dieser Methode wird eine Kanüle 1 cm in der Mitte unterhalb des Ringknorpels eingeführt. Während der Patient hustet, wird ein Stück eines sterilen Vinylschlauches durch die Kanüle geschoben und das Sputum mit einer Spritze abgesaugt. Eine Bewertung dieser Technik (56) hat gezeigt, daß sie nicht so zuverlässig ist, wie bei einer Bronchoskopie ein in einer Scheide befindliches Wattestäbchen durch das Bronchoskop zu schieben und so das Sekret zu gewinnen.

Die Ausbeute an Keimen war ähnlich jener, die von Lungengewebe bei Eröffnung des Brustkorbes gewonnen wurde und weitaus ergiebiger als die Untersuchung ausgespuckten Sputums (23). Letzteres gilt für die Pneumonie (21, 69).

Obwohl die Trans-tracheale Aspiration (TTA) gegenüber den anderen Verfahren wesentlich bessere Ausbeuten ergibt, da sie eine

schnelle und genaue bakterielle Diagnostik bei der Pneumonie ermöglicht, besonders wenn es sich um anaerobe Keime handeln könnte, liegt die Morbidität dieser Methode bei 4 - 5 % (23, 69) mit gelegentlich auftretendem subcutanem und mediastinalem Emphysem und Hämoptoe. Aus diesem Grund ist es unwahrscheinlich, daß die TTA ein Routineverfahren wird. Ein in der Methodik erfahrener Arzt könnte jedoch eine gute Aussage erzielen. Dies ist besonders wichtig für die Behandlung schwerer oder sonst unklarer Lungeninfektionen (79).

Seit der Einführung durch Leyden (32) ist die Lungenpunktion von mehreren Autoren als Alternativverfahren bei Kindern verwendet worden.

Ein Vergleich dieser Methode mit dem Züchtungsergebnis von ausgehustetem Sputum (45) hat ergeben, daß sie eine weit größere und zuverlässigere Ausbeute an pathogenen Keimen ergibt. Diese Technik ist besonders bei Kleinkindern mit schwerer Pneumonie brauchbar. Wie bei der TTA ist es auch bei dieser Methode unwahrscheinlich, daß sie als Routineverfahren Verbreitung findet.

2. Verbesserung der technischen Möglichkeiten zur Auswahl der richtigen Methode

Zur Vermeidung einer Kontamination im Rachenraum schlug Mulder (48) vor, das Material vor der Anzüchtung dreimal zu waschen. Andere Autoren halten dieses Verfahren für nicht sehr sinnvoll (8). Allibone (1) schlug vor, die Ausbeute an pathogenen Keimen auch bei einer evtl. Kontamination durch das Anzüchten aus einer größeren Menge Untersuchungsmaterials zu verbessern.

Die Nichthomogenität des Sputums ist wahrscheinlich eine größere Ursache für Fehlinterpretationen als die Maskierung durch eine oro-pharyngeale Kontamination, wie dies von May (39, 40) eindeutig nachgewiesen wurde. May empfahl daher das mehrfache Sammeln aus mindestens fünf Fraktionen des Untersuchungsmaterials bzw., falls nötig, auch zusätzlicher Proben. Unser Routineverfahren, nämlich aus einem eitrigen Gebiet eine größere Menge zu

gewinnen bzw. weitere Proben zu entnehmen, ist eine Modifikation des May'schen Verfahrens, die durch Verwendung noch selektiverer Nährböden, wie wir es tun, noch weiter verbessert werden kann.

Durch Homogenisierung oder Verflüssigung des Sputums kann die uneinheitliche Verteilung der Mikroorganismen beseitigt werden. Dies wird erreicht durch eine enzymatische Verdauung mit Pankreatin (15, 35, 66, 67) oder N-Acetyl-L-cystein (85). Methoden wie Ultraschallbehandlung, Schütteln mit Glasperlen oder der Einsatz mechanischer Mischgeräte wie des "Colworth Stomacher" (46) können ebenfalls zur Zerstörung visköser Mukopeptidmoleküle verwendet werden. Solche Methoden bieten den Vorteil, daß sie rasch wirksam sind und nur 1 - 2 Minuten gegenüber 1/2 bis 1 Stunde bei anderen Methoden benötigen. Wir haben die Cystein-Methode ausgewählt, um sie mit unserem Routineverfahren zu vergleichen.

3. Verfeinerung der kulturellen Arbeitsmethoden

Über quantitative Züchtungsmethoden ist von verschiedenen Autoren berichtet worden: Es wurde der Versuch gemacht, die "Signifikanz" der Anzahl der vorhandenen Keime mit den heute allgemein anerkannten Kriterien für "signifikante" Harnwegsinfektionen in Beziehung zu bringen (24, 25, 26).

Das Auffinden von Bakterien aus den tieferen Bronchien war immer mit einer höheren Keimzahl (10^6 /ml Exudat) verbunden (30). Auch enthielt das Homogenisat von eitrigem Sputum eine große Anzahl potentiell pathogener Keime (15, 35, 36).

Dixon und Miller (17) fanden bei homogenisierten Proben, die 1 : 1000 verdünnt waren, in 70 % der Fälle kein Wachstum oder nur eine Monokultur. Sie empfahlen diese Methode für die Routineuntersuchung von Sputumproben.

Unsere Bewertung dieser Technik (Verdünnung 1 : 1000 und Ausstreichen auf Selektivnährböden) bestätigte die Erfahrung, die

wir mit unverdünnten Sputumproben mit beiden Methoden gemacht haben. Sie versagten in keinem Fall. Weitere quantitative Züchtungsmethoden sind von Pirtle et al. (64) und Monroe et al. (47) ausgewertet worden. Beide Autoren verwendeten eine kalibrierte Öse mit einer Verflüssigung und Verdünnungstechnik bei akuter, bakterieller Pneumonie. Sie vertraten die Ansicht, daß mit dieser Methode ein Befund von 10^7 Keimen/ml in Monokultur weit aussagekräftiger für den Krankheitswert ist. Reihenverdünnungen des homogenisierten Sputums wurden früher bereits von Lindsey (33) beschrieben und dann von Mitchell und Harvey (46) weiterbearbeitet. Sie wurden nicht in diese Studie aufgenommen.

In unserem Routineverfahren wurden drei Methoden zur Unterscheidung der in Frage stehenden pathogenen Keime benutzt:

- a) Zwei Optochinblättchen wurden auf eine Blutagarplatte aufgelegt (6). Das Resultat kann dann folgendermaßen aussehen:
 1. Reichliches Wachstum bis zum Rand des Blättchens bei Überwiegen von Viridansstreptokokken gegenüber Pneumokokken.
 2. Reichliches Wachstum beider Keime bis zur Hemmhofzone, spärliches Wachstum von Viridansstreptokokken innerhalb der Zone. Pneumokokken sind innerhalb der Zone vollständig gehemmt.
 3. Bei einer ungefähr gleichmäßigen Verteilung beider Erreger ergibt sich ein starkes Wachstum bis zur Hemmhofzone und ein spärliches Wachstum von Viridansstreptokokken innerhalb des Hemmhofes.
Pneumokokken konnten dann nach dem Überimpfen genau identifiziert werden.
- b) Kochblutagar, der 10 E/ml Bacitracin enthält (2, 22) und besonders Haemophilus spp. trennt.
- c) MacConkey Gallensalzagar, der Koli-keime selektiert.

Bei sorgfältiger Auswahl des Untersuchungsmaterials und der Verwendung von Selektivnährböden zeigten weder die Verflüssigungsmethode noch die Verdünnungstechnik mit zusätzlicher Verdünnung 1 : 1000 einen klaren Vorteil.

4. Erweiterung der diagnostischen Möglichkeiten

Zur Diagnostik bakterieller Lungeninfektionen wurden neben der Sputumkultur auch andere Bestimmungsverfahren, entweder allein oder als Zusatzbestimmung, eingesetzt. So wurden zum Beweis der Signifikanz der Sputumerreger bei einer Pneumonie recht häufig Blutkulturen abgenommen, und zwar nicht nur bei Pneumokokken- sondern auch bei H. influenza-Infektionen (20).

Auch immunologische Bestimmungsmethoden werden zum direkten oder indirekten Antikörpernachweis von pathogenen Keimen in der Lunge benutzt.

Präzipitierende Serumantikörper gegen Haemophilus influenzae wurden von Burns und May (11) mit einer Agargel-Doppeldiffusions-Präzipitationsmethode untersucht. Es ergab sich eine gute Korrelation zwischen einer haemophilusspezifischen Antikörperkomponente (H_1) und einer eitrig-mukösen oder obstruktiven Bronchitis. Dieses Verfahren ist auch auf andere Erreger wie z. B. Klebsiellen und andere Enterobacteriaceen ausgedehnt worden (9) und bei der Studie über Lungenkomplikationen bei prädisponierenden Krankheiten, wie Mucoviscidose (12) angewendet worden. Agglutinierende Antikörper sind ebenfalls getestet worden (51, 52). Diese Methoden haben den Nachteil, daß das Verarbeitungsverfahren ziemlich aufwendig ist, denn es werden gleichzeitig Blut- und Sputumproben benötigt, die im Frühstadium einer akuten Pneumonie, wenn sich vor allem die Serumantikörper noch nicht gebildet haben, nur sehr wenig positive Ergebnisse liefern.

Nur in hierfür spezialisierten Labors kann man bei chronischen Infektionen eine ausreichend schnelle Bestätigung der Kulturergebnisse bekommen.

Der Nachweis bakterieller Antigene läßt an eine schwere bakterielle Aussaat denken. Daher wurde dieser Nachweis von Verhoef und Jones (81) benutzt, um eine Korrelation zwischen vorhandenem Pneumokokkenantigen im Sputum, der Anzahl lebensfähiger Pneumokokken und dem Schweregrad der Erkrankung nachzuweisen. Spencer und Savage (73) zeigten jedoch, daß bei Patienten mit postoperativem Husten im Sputum genauso Pneumokokken-Antigene

nachweisbar waren wie bei jenen Patienten mit einer Pneumonie. Der Wert dieser Bestimmung könnte darin liegen, daß eine bakterielle Diagnostik ohne kulturelles Wachstum durchgeführt werden kann, gleichgültig, ob es sich im Einzelfall um eine geringe Bakterienmenge, um eine vorangegangene Antibiotikatherapie, um das Überwuchern durch Saprophyten oder das Fehlen eines geeigneten Kultursystems handelt.

Das Vorhandensein von Bakterien im Urin, die von Antikörpern umgeben sind, kann mit Hilfe der Fluoreszenzmikroskopie sichtbar gemacht werden. Dieses Verfahren wurde auch zur Unterscheidung von Infektionen in den oberen und unteren Harnwegen benutzt (74). Bei Infektionen der oberen Harnwege (Pyelonephritis) findet sich ein bemerkenswert hohes Vorkommen von Bakterien, die mit Antikörpern umgeben sind (34, 35), im unteren Bereich ist genau das Gegenteil der Fall (1, 20). Dieser Test korreliert bei einer Gewebsinfektion sehr viel besser als der Nachweis von Serumantikörpern (57, 74, 83, 84). Ein analoger Test für Sputum bei Lungeninfektionen wurde empfohlen, ist aber noch nicht ausgewertet.

5. Bewertung der hier gebrauchten Methoden und der klinischen Bedeutung der isolierten Keime

In der vorliegenden Studie stimmten die klinischen Ergebnisse mit den Laborbefunden in den meisten Fällen gut überein. Es gab eine gute Korrelation zwischen den Sputumbefunden sowie den klinischen und röntgenologischen Lungenbefunden nach einer Operation. In den meisten Fällen ging der mehr oder weniger ausgeprägte klinische Befund der Lungeninfektion mit einem üppigen Wachstum von Pneumokokken oder Haemophilus influenzae oder beiden einher.

Die ätiologischen Beziehungen dieser beiden Keime zur Pneumonie und zu einer akuten Verschlechterung einer chronischen Bronchitis sind hinreichend bekannt (1, 18, 20, 31, 38, 39, 40, 48, 49, 75).

Die zuletzt genannten Autoren verglichen die Ergebnisse von Proben, die bei der TTA oder der fiberoptischen Bronchoskopie gesammelt wurden mit dem Untersuchungsmaterial, das durch Aushusten gewonnen wurde. Es wurde eine deutliche Korrelation zwischen nachgewiesenen Pneumokokken und einer Pneumonie gesehen (13/16 Patienten, weniger ausgeprägt war dies bei *Haemophilus influenzae* (4/16 Patienten). Diese Untersuchungsproben wurden mit Hilfe der TTA gesammelt.

Andere Autoren (3 u. a.) behaupteten, daß eine Kultur von ausgehustetem Sputum zur Diagnose einer Pneumokokken-Pneumonie nicht geeignet sei. Barrett-Connor (3) zeigte zum Beispiel, daß bei 45 % der Patienten mit einer unbehandelten Pneumokokken-Pneumonie, die später durch positive Blutkulturen, durch eine Autopsie und anschließende kulturelle Züchtung bestätigt wurde, keine Pneumokokken in dem ausgehusteten Sputum nachweisbar waren. Bei einer schweren Pneumonie ist der Patient oft zu krank, um richtig husten zu können.

Die Bedeutung anderer gramnegativer Bakterien und *Staph. aureus* für eine akute Pneumonie mit Ausnahme gewisser besonderer Krankheiten wie z. B. der cystischen Fibrose (12, 27) und der postgrippalen Pneumonie ist weniger klar. Keime wie *Esch. coli* (62, 77), *Proteus* (78) und *Pseudomonas aeruginosa* (53, 63, 68, 70) zeigen gelegentlich einen deutlichen kausalen Zusammenhang mit einigen Pneumonien sowie auch *Klebsiella aerogenes* (*Kl. pneumoniae*). Diese Erreger werden aber heutzutage weltweit mit zunehmender Häufigkeit aus dem Sputum isoliert (19, 43), auch wenn sie nicht mit einer Lungeninfektion in Verbindung stehen (10). Obwohl in letzterer Studie bei 63 Patienten aus dem Sputum *Pseudomonas aeruginosa* isoliert wurde, vermutete Burns, daß diese Keime nur bei fünf Patienten - alle sind gestorben - der Grund für die Pneumonie gewesen sind. Die Gründe für eine zunehmende Isolierungsrate gramnegativer Keime aus dem Sputum sind zweifach bedingt (58), nämlich durch

1. die Zunahme der Keime aus der Krankenhausumgebung (nosokomiale Infektionen)
2. den weit verbreiteten Gebrauch von Antibiotika.

Eine Kontaminierung mechanischer Ventilatoren und Absauggeräte (4, 5, 13, 60) durch *Pseudomonas aeruginosa* und viele andere gramnegative Keime ist durch den größeren Einfluß der Umwelt und sogar durch das Krankenhausessen gezeigt worden (71). Philp und Spencer (61) fanden z. B., daß die Krankenhausumgebung allein ausreicht, um zu einer Kolonisierung des Sputums mit coliformen Bakterien zu führen - andererseits konnten Percival und Roberts (58) bei einem von fünf Patienten ohne Chemotherapie eine Kolonisierung des Speichels nachweisen. 65 % der Patienten wurden nach einer Antibiotikabehandlung kolonisiert. So wurde durch eine frühere antimikrobielle Chemotherapie drastisch die Isolierungsrate ähnlicher Keime, wie z. B. *Pneumokokken* und *Haemophilus influenzae* aus dem Sputum reduziert (61, 72). Dabei nahm die Isolierungsrate von Kolibakterien und anderen Arten beträchtlich zu. Eine derartige, von diesen Autoren demonstrierte Wirkung von Antibiotika auf die körpereigene Flora ist von vielen anderen Autoren auch bewiesen worden (18, 34, 41, 42, 54, 58, 59, 65, 76).

Ampicillin, eines der meistverordneten Antibiotika in Großbritannien hat durch Selektionsdruck vermehrt *Klebsiella aerogenes* hervorgebracht, die normalerweise ampicillinresistent sind.

Darell und Hurdle (16) fanden, daß 92 % der Isolierungen von *Klebsiella aerogenes* aus dem Sputum in dieser Untersuchungsreihe von Patienten stammten, die ständig mit Antibiotika behandelt wurden, z. B. oft wegen einer anderen Erkrankung. Derartige Isolierungen waren jedoch selten klinisch verwertbar.

Bei der gegenwärtigen Studie ging der klinische Befund einer Lungeninfektion mit einem starken Wachstum von *Pneumokokken* bzw. *Haemophilus influenzae* oder beiden einher. Andere gramnegative Bakterien und *Staph. aureus* waren selten bei einer Infektion beteiligt, bei der die Patienten keine Antibiotika erhielten. Damit besteht eine gute Übereinstimmung mit den Ergebnissen anderer Autoren.

Die Relation der klinischen Befunde zu den Laborergebnissen war, entgegen dem Pessimismus der Verfechter der Trans-trachealen

Aspiration (TTA), ermutigend und zwar deswegen, weil mit ausgehustetem Sputum, mit dem Selektivnährböden beschickt wurden, ein Resultat zu erwarten war, das zwar nicht reproduzierbar konstant war, aber doch immerhin eine Beziehung der Sputumbefunde zu den klinischen und röntgenologischen Zeichen einer Lungenentzündung ergab. Dies zeigte sich besonders, wenn Pneumokokken und Haemophilus influenzae als Keime von pathogener Signifikanz angesehen wurden und man gramnegative Keime, ebenso wie Staph. aureus als wahrscheinliche "Zweitbesiedler" gelten ließ. Wenn also Selektivnährböden angewendet wurden, ist die mikroskopische und kulturelle Untersuchung des ausgehusteten Sputums dann brauchbar und bei der Mehrzahl der akuten Hospitalinfektionen gerechtfertigt, wenn die Möglichkeit einer detaillierten ausgearbeiteten Routinemethode zur Sputumgewinnung und -untersuchung nicht gegeben ist.

Die verschiedenen Faktoren, die operierte Patienten für eine Lungenentzündung besonders empfänglich machen, wurden vor kurzem von Laszlo et al. (29) beschrieben. Eine Antibiotikatherapie nach einer postoperativen Lungeninfektion ist meist nur in schweren Fällen üblich. Sie sollte anfänglich gegen Pneumokokken und Haemophilus gerichtet sein, davon abgesehen empfiehlt es sich aber dringend, das Sputum vor der Behandlung mikroskopisch zu untersuchen.

V. ZUSAMMENFASSUNG

Bei 73 Patienten wurde eine prospektive Studie im Hinblick auf postoperative Lungeninfektionen durchgeführt, um die Standardlabormethoden der Sputumuntersuchung zu vergleichen; zusätzlich wurden die Ergebnisse der klinischen Befunde zur Antibiotikatherapie in Relation gesetzt.

Wenn ein Selektivnährboden zusätzlich zu einer routinemäßig verwendeten Agarplatte benutzt wurde, ergab die Homogenisierung im Vergleich zu einem Direktabstrich aus dem eitrigen Teil einer Sputumprobe keinen Vorteil. Eine zusätzliche Verflüssigung brachte auch keinen weiteren Vorteil.

Laborergebnisse und klinische Befunde standen gewöhnlich in guter Korrelation zueinander. Ein dominierendes Wachstum von Pneumokokken oder Haemophilus influenzae ging eindeutig mit dem klinischen Befund einer Lungenentzündung einher, bei anderen gramnegativen Bakterien und bei Staph. aureus war dies weniger der Fall. Kolibakterien herrschten nach einer Antibiotikatherapie häufiger vor.

Aufgrund dieser Untersuchungen ist es empfehlenswert, bei postoperativer Lungeninfektion, auch bei akuter Pneumonie, sorgfältig ausgehustete Sputumproben unter oben genannten Bedingungen zu züchten, auch wenn verfeinerte Gewinnungsmethoden wie z. B. mit Hilfe der trans-trachealen Aspiration nicht vorhanden sind.

- (9) Burns, M.W.: Precipitins to Klebsiella and other Enterobacteria in the serum of patients with chronic respiratory disorders.
Lancet 1: 383 (1968).
- (10) Burns, M.W.: Significance of Pseudomonas aeruginosa in sputum.
Brit. med. J. 3: 382 (1973).
- (11) Burns, M.W.,
May, J.R.: Haemophilus influenzae precipitins in the serum of patients with chronic bronchial disorders.
Lancet 1: 354 (1967).
- (12) Burns, M.W.,
May, J.R.: Bacterial precipitins in serum of patients with cystic fibrosis.
Lancet 1: 270 (1968).
- (13) Cartwright, R.Y.,
Hargrave, P.R.: Pseudomonas in ventilators.
Lancet 1: 40 (1970).
- (14) Clifton, M.,
Pownall, M.,
Stuart-Harris, C.H.: Observations on the carriage of pneumococci by patients with chronic bronchitis and their families.
J. Hyg. (Camb.): 53: 225 (1955).
- (15) Cooper, A.W.,
Williamson, G.M.,
Zinneman, K.: Chronic bronchitis; changes in the bacterial flora of the sputum associated with exacerbations and long-term antibacterial treatment.
Brit. J. Dis. Chest 55: 23 (1961).
- (16) Darrell, J.H.,
Hurdle, D.F.: Identification and clinical significance of Klebsiella species in chest infections.
J. clin. Path. 17: 617 (1964).

- (17) Dixon, J.M.S., Value of dilute inocula in cultural
Miller, D.C.: examination of sputum.
Lancet 2: 1046 (1965).
- (18) Elmes, P.C., Sputum in chronic bronchitis;
Knox, K., effects of antibiotics.
Fletcher, C.M.: Lancet 2: 903 (1953).
- (19) Finland, M., Occurrence of serious bacterial
Jones, W.F., infections since introduction of
Barnes, M.W.: antibacterial agents.
J. Amer. med. Ass.: 170: 2188
(1959).
- (20) Goldstein, E., Haemophilus influenzae as a cause
Daly, E.K., of adult pneumonia.
Seamans, C.: Ann. Int. Med. 66: 35 (1967).
- (21) Hahn, H.H., Transtracheal aspiration in the
Beaty, H.N.: evaluation of patients with pneu-
monia.
Ann. Int. Med. 72: 183 (1970).
- (22) Hovig, B., A selective medium for the isolation
Aandahl, E.H.: of Haemophilus in material from
the respiratory tract.
Acta Pathol. Microbiol. Scand.
77: 676 (1968).
- (23) Kalinski, R.W., Diagnostic usefulness and safety
Parker, R.H., of transtracheal aspiration.
Brandt, D., New Eng. J. Med. 276: 604 (1967).
Hoeprich, P.D.:
- (24) Kass, E.H.: Symposium on newer aspects of
antibiotics: chemotherapeutic and
antibiotic drugs in the management
of infections of urinary tract.
Amer. J. Med. 18: 764 (1955).

- (25) Kass, E.H.: Asymptomatic infections of the urinary tract.
Trans. Ass. Amer. Physicians 69: 56 (1956).
- (26) Kass, E.H.: Bacteriuria and diagnosis of infections of urinary tract with observations on use of methionine as urinary antiseptic.
Arch. Int. Med. 100: 709 (1957).
- (27) Kilbourn, J.P.,
Campbell, R.A.,
Grach, J.L.,
Willis, M.D.: Quantitative bacteriology of the sputum.
Amer. Rev. Resp. Dis. 98: 810 (1968).
- (28) Knothe, H.: Über die Bakteriologie des Tracheo-bronchialsystems.
Internist 10: 442 (1971).
- (29) Laszlo, G.,
Archer, G.G.,
Darrell, J.H.,
Dawson, J.M.,
Fletcher, C.M.: The diagnosis and prophylaxis of pulmonary complications of surgical operations.
Brit. J. Surg.: 60: 129 (1973).
- (30) Laurenzi, G.A.,
Potter, R.T.,
Kass, E.H.: Bacteriologic flora of the lower respiratory tract.
New Engl. J. Med. 265: 1273 (1961).
- (31) Lees, A.W.,
McNaught, W.: Bacteriology of lower-respiratory-tract secretions, sputum, and upper-respiratory-tract secretions in "normals" and chronic bronchitics.
Lancet 2: 1112 (1959).
- (32) Leyden, I.,
Gunther, V.T.T.: Verhandlungen des Vereins für innere Medizin: Über infektiöse Pneumonie.
Deutsch. Med. Wschr. 9: 52 (1883).

- (33) Lindsey, D.: Quantitative bacteriologic study of tissues, fluids and exudates. J. lab. clin. Med. 53: 299 (1959).
- (34) Long, D.A.: Effect of penicillin on the bacterial flora of the mouth. Brit. med. J. 2: 819 (1947).
- (35) Louria, D.B.: Use of quantitative analyses of bacterial populations in sputum. J. Amer. Med. Ass. 182: 1082 (1962).
- (36) Louria, D.B., Kaminski, T.: Effects of four antimicrobial regimens on sputum superinfection in hospitalised patients. Amer. Rev. resp. Dis. 85: 649 (1962).
- (37) Marshall, J.H., Kelsey, J.C.: A standard culture medium for general bacteriology. J. Hyg. (Camb.) 58: 367 (1960).
- (38) May, J.R.: The bacteriology of chronic bronchitis. Lancet 2: 1206 (1952).
- (39) May, J.R.: The bacteriology of chronic bronchitis. Lancet 2: 534 (1953).
- (40) May, J.R.: Chemotherapy of Chronic Bronchitis. English University Press, Ltd., London. (1968).
- (41) McCurdy, R.S., Neter, E.: Effects of penicillin and broad-spectrum antibiotics on the emergence of gram-negative bacillary flora in the upper respiratory tract of infants. Pediatrics 9: 572 (1952).

- (42) Meads, M.,
Rowe, W.P.,
Haslam, N.M.:
Alterations in the bacterial flora
of the throat during oral therapy
with aureomycin.
Arch. int. Med. 87: 533 (1951).
- (43) Metz, H.,
Preac-Mursic, V.:
Der Wandel des Erregerspektrums im
Untersuchungsmaterial des oberbaye-
rischen Raums im Jahrzehnt 1960 -
1970. Münch. med. Wschr. 115: 2062
(1973).
- (44) Miller, D.L.,
Jones, R.:
A study of techniques for the
examination of sputum in a field
survey of chronic bronchitis.
Amer. Rev. resp. Dis. 88: 473 (1963).
- (45) Mimica, I.,
Donoso, E.,
Howard, J.E.,
Ledermann, G.W.:
Lung puncture in the etiological
diagnosis of pneumonia.
Amer. J. Dis. Child. 122: 278
(1971).
- (46) Mitchell, N.J.,
Harvey, A.R.:
Application of the stomacher for
rapid homogenisation of sputum and
the serial streak dilution method
for quantitative culture.
J. clin. Path. 28: 421 (1975).
- (47) Monroe, P.W.,
Muchmore, H.G.,
Felton, F.G.,
Pirtle, K.J.:
Quantitation of microorganisms in
sputum.
Appl. Microbiol. 18: 214 (1969).
- (48) Mulder, J.:
Haemophilus influenzae (Pfeiffer)
as the ubiquitous cause of common
acute and chronic purulent bron-
chitis.
Acta med. Scand. 94: 98 (1938).

- (49) Mulder, J.,
Goslings, W.R.O.,
Van der Plas, M.C.,
Cardozo, P.L.:
Studies on the treatment with anti-bacterial drugs of acute and chronic mucopurulent bronchitis caused by *Haemophilus influenzae*.
Acta med. Scand. 143: 32 (1952).
- (50) Murray, P.R.,
Washington, J.A.:
Microscopic and bacteriologic analysis of expectorated sputum.
Mayo Clinic Proc. 50: 339 (1975).
- (51) Nicholls, A.C.,
Pease, P.E.,
Green, I.D.:
Agglutinin response to bacterial infection in acute exacerbations of chronic bronchitis.
J. clin. Path. 28: 279 (1975 a)
- (52) Nicholls, A.C.,
Pease, P.E.,
Green, I.D.:
A study of the agglutinin response in 40 cases of bacterial pneumonia.
J. clin. Path. 28: 453 (1975 b).
- (53) Noone, P.,
Rogers, B.T.:
Pneumonia caused by coliforms and *Pseudomonas aeruginosa*.
J. clin. Path. 29: 652 (1976).
- (54) Ory, E.M.,
Harris, H.W.,
Meads, M.,
Wilcox, C.,
Finland, M.:
Bacteriologic studies of sputum in patients with pneumococcal pneumonia treated with penicillin.
J. lab. clin. Med. 31: 409 (1946).
- (55) Pecora, D.V.:
Method of securing uncontaminated tracheal secretions for bacterial examination.
J. thor. cardiovasc. Surg. 37: 653 (1959).
- (56) Pecora, D.V.:
A comparison of transtracheal aspiration with other methods of determining the bacterial flora of the lower respiratory tract.
New Engl. J. Med. 269: 664 (1963).

- (57) Percival, A.,
Brumfitt, W.,
De Louvois, J.: Serum-antibody levels as an indication of clinically inapparent pyelonephritis.
Lancet 2: 1027 (1964).
- (58) Percival, A.,
Roberts, C.: Significance of Enterobacteria and Pseudomonas in sputum.
Aus: Microbiology of the Seventies, ed. F.J. Baker, S. 154, Butterworths, London (1972).
- (59) Petersdorf, R.G.,
Curtin, J.A.,
Hoeprich, P.D.,
Peeler, R.N.,
Bennett, I.L.: A study of antibiotic prophylaxis in unconscious patients.
New Eng. J. Med. 257: 1001 (1957).
- (60) Phillips, I.,
Spencer, G.: Pseudomonas aeruginosa cross-infection due to contaminated respiratory apparatus.
Lancet 2: 1325 (1965).
- (61) Philp, J.R.,
Spencer, R.C.: Secondary respiratory infection in hospital patients: Effect of antimicrobial agents and environment.
Brit. med. J. 2: 359 (1974).
- (62) Pierce, A.K.,
Edmondson, E.B.,
McGee, G.,
Sanford, J.P.: An analysis of factors predisposing to gram-negative bacillary necrotising pneumonia.
Amer. Rev. resp. Dis. 94: 309 (1966).
- (63) Pines, A.,
Raafat, H.,
Siddiqui, G.M.,
Greenfield, J.S.B.: Treatment of severe Pseudomonas infection of the bronchi.
Brit. med. J. 1: 663 (1970).

- (64) Pirtle, J.K.,
Monroe, P.W.,
Smalley, T.K.,
Mohr, J.A.,
Rhodes, E.R.:
Diagnostic and therapeutic advantages of serial quantitative cultures of fresh sputum in acute bacterial pneumonia.
Amer. Rev. resp. Dis. 100: 831 (1969).
- (65) Price, D.J.E.,
Sleigh, J.D.:
Control of infection due to *Klebsiella aerogenes* in a neuro-surgical unit by withdrawal of all antibiotics.
Lancet 2: 1213 (1970).
- (66) Rawlins, G.A.:
Liquefaction of sputum for bacteriological examination.
Lancet 2: 538 (1953).
- (67) Rawlins, G.A.:
Use of pancreatin-trypsin solution for liquefaction of sputum for routine bacteriological examination.
J. clin. Path. 21: 531 (1968)
- (68) Reinarz, J.A.,
Pierce, A.K.,
Mays, B.B.,
Sanford, J.P.:
The potential role of inhalation therapy equipment in nosocomial pulmonary infection.
J. clin. Invest. 44: 831 (1965)
- (69) Ries, K.,
Levison, M.E.,
Kaye, D.:
Transtacheal aspiration in pulmonary infection.
Arch. int. Med. 133: 453 (1974).
- (70) Sanders, C.V.,
Luby, J.P.,
Johanson, W.G.,
Barnett, J.A.,
Sanford, J.P.:
Serratia marcescens infections from inhalation therapy medications: nosocomial outbreak.
Ann. int. Med. 73: 15 (1970).

- (71) Shooter, R.A.,
Faiers, M.C.,
Cooke, E.M.,
Breaden, A.L.,
O'Farrell, S.M.: Isolation of *Escherichia coli*,
Pseudomonas aeruginosa and *Kleb-*
siella from food in hospitals,
canteens and schools.
Lancet, 2: 390 (1971).
- (72) Spencer, R.C.,
Philp, J.R.: Effect of previous antimicrobial
therapy on bacteriological findings
in patients with primary pneumonia.
Lancet 2: 349 (1973).
- (73) Spencer, R.C.,
Savage, M.A.: Pneumococcal antigen in sputum.
Lancet 1: 988 (1974).
- (74) Thomas, V.,
Shelokor, M.D.,
Forland, M.: Antibody-coated bacteria in the
urine and the site of urinary-
tract infection.
New Engl. J. Med. 290: 588 (1974).
- (75) Thorsteinsson, S.B.,
Musher, D.M.,
Fagan, T.: The diagnostic value of sputum
culture in acute pneumonia.
J. Amer. med. Ass. 233: 894 (1975).
- (76) Tillotson, J.R.,
Finland, M.: Bacterial colonisation and clini-
cal superinfection of the respira-
tory tract complicating antibiotic
treatment of pneumonia.
J. inf. Dis. 119: 597 (1969).
- (77) Tillotson, J.R.,
Lerner, A.M.: Characteristics of pneumonias
caused by *Escherichia coli*.
New Engl. J. Med. 277: 115 (1967).
- (78) Tillotson, J.R.,
Lerner, A.M.: Characteristics of pneumonias
caused by *Bacillus proteus*.
Ann. int. Med. 68: 287 (1968).
- (79) Transtracheal aspiration. (Leading article).
Lancet 1: 1151 (1974).

- (80) Turk, D.C.,
May, J.R.:
Haemophilus influenzae, its
clinical importance.
English Universities Press Ltd.,
London. (1967).
- (81) Verhoef, J.,
Jones, D.M.:
Pneumococcal antigen in sputum.
Lancet 1: 879 (1974).
- (82) Wieser, O.:
Über die klinische Bedeutung der
Keimbestimmung in Sputum.
Wiener klin. Wschr. 85: 861 (1973).
- (83) Williamson, J.,
Brainerd, H.,
Scaparone, M.:
Antibacterial antibodies in coli-
form urinary tract infections.
Arch. Int. Med. 114: 222 (1964).
- (84) Winberg, J.,
Andersen, H.J.,
Hanson, L.A.,
Lincoln, K.:
Studies of urinary tract infec-
tions in infancy and childhood.
1. Antibody response in different
types of urinary tract infections
caused by coliform bacteria.
Br. med. J. 2: 524 (1963).
- (85) Woodhams, A.W.,
Mead, G.R.:
A comparison between pancreatin
and N-actyl-L-cysteine as sputum
liquefying agents for the culture
of organisms.
Tubercle 46: 224 (1965).

Herrn Professor Dr. W.A. Gillespie möchte ich danken für die Überlassung des Themas und die Möglichkeit, den experimentellen Teil dieser Arbeit in seiner Abteilung an der Universität Bristol durchzuführen.

Außerdem gilt mein Dank Herrn Professor Dr. W. Marget für seine Anregungen und die Unterstützung bei der Fertigstellung der Arbeit in München. Herrn Priv.-Doz. Dr. Dr. D. Adam bin ich für die stilistische Durchsicht des Textes besonders dankbar.

LEBENS LAUF

Am 8. 11. 1945 wurde ich als Sohn des Hochschullehrers Dr. John Wilkinson in Swansea, Wales, geboren. Von 1953 bis 1963 besuchte ich die "Exeter School" in Exeter, Devon. Bei der Aufnahmeprüfung des "Peterhouse" (Universität Cambridge) wurde ich ausgezeichnet (Geoffrey Southerden Open Exhibition) und studierte die nächsten vier Jahre die vorklinischen Fächer. Auf Grund meiner Examina im Jahr 1967 bekam ich den Titel "Scholar". Eine weitere Auszeichnung erhielt ich anlässlich der Scholarship-Prüfung für das "King's College Hospital" an der Universität London. Hier absolvierte ich von 1967 bis 1970 meine klinischen Fächer.

Das medizinische Abschlußexamen bestand ich 1970 an der Universität Cambridge. Meine Registration als Arzt (entspricht der Vollapprobation) erhielt ich 1971 nach der Tätigkeit am King's College Hospital. Seitdem bin ich in der Pathologie, Hämatologie, klinischen Chemie und medizinischen Mikrobiologie als Demonstrator, Registrar und Senior Registrar in Bristol an verschiedenen Kliniken tätig gewesen. Meine Facharztausbildung mit der erforderlichen Prüfung (Final Examination for Membership of the Royal College of Pathologists = Final M.R.C.Path.) habe ich im Juni 1976 abgeschlossen. Seit Oktober 1976 bin ich als Alexander von Humboldt-Stipendiat in der Abteilung für Antimikrobielle Therapie und Infektionsimmunologie (Vorstand Prof. Dr. W. Marget) in der Universitäts-Kinderklinik, München, im Dr. von Hauner'schen Kinderspital tätig. Meine medizinische Approbation für Deutschland erhielt ich im Dezember 1976.

Seit 1971 bin ich verheiratet mit Helen Evelyn Wilkinson, geb. Tar. Wir haben zwei Kinder im Alter von 2 und 4 Jahren. Ich beabsichtige, die Universitätslaufbahn einzuschlagen und beginne im Januar 1978 an der Universität Bristol als "Consultant Senior Lecturer" (= Privatdozent) in Medizinischer Mikrobiologie.

